Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Immunologische und gerinnungsphysiologische Untersuchungen über die Fibrinolyse unter der Geburt und im Wochenbett

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Konrad Zipplies
aus Tübingen

1968

9498

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0066

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Immunologische und gerinnungsphysiologische Untersuchungen über die Fibrinolyse unter der Geburt und im Wochenbett

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Konrad Zipplies
aus Tübingen

1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. F. Lembeck

Berichterstatter: Professor Dr. V. Probst

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG • Tübingen

Meinen Eltern

Meiner Frau

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
	Blutgerinnung	1
	Gerinnungshemmung	1
	Fibrinolyse	2
	Die geburtshilfliche Afibrinogenämie	4
II.	Fragestellung	8
III.	Eigene Untersuchungen	9
	1) Gerinnungsphysiologische Untersuchungsmethoden	9
	2) Immunologische Methoden	11
	3) Immunologische Untersuchungen	22
IV.	Diskussion	26
V.	Zusammenfassung	28
	Literaturverzeichnis	29

I. EINLEITUNG

Blutgerinnung und Fibrinolyse stehen im Körper in einem physiologischen Gleichgewicht und sind untrennbar miteinander verbunden. Die Auslösung der Blutgerinnung kann auf zwei Wegen erfolgen, einerseits durch Blutplättchenzerfall, andererseits durch Gewebsläsion.
Im ersten Fall wird Blutthrombokinase gebildet, im letzten wird die sogenannte Gewebsthrombokinase frei gesetzt. Beide Thrombokinasen vermögen die Gerinnung auszulösen. Durch Überführung des Prothrombins, der inaktiven Vorstufe, in Thrombin kann nun das Fibrin aus seiner Vorstufe, dem Fibrinogen, gebildet werden. Das Fibrin bildet den Thrombus, der aus einem Netz von Fibrinfäden aufgebaut ist, mit Einschluß von roten Blutkörperchen. Das Gerinnsel hat die Eigenschaft durch aktive Leistung der Thrombozyten zu schrumpfen, dabei wird die in ihm enthaltene Blutflüssigkeit ausgepreßt. Bei der Retraktion des Gerinnsels kann es zu einer Verkleinerung bis auf ein zwanzigstel seines ursprünglichen Volumens kommen. Durch diese Retraktion erst kann eine endgültige Blutstillung zustande kommen. Findet sie nicht statt, so kann zwar auch eine vorläufige Blutstillung eintreten, doch wird das schwache Gerinnsel leicht wieder ausgespült und eine schwere Nachblutung kann die Folge sein.
Die beiden Thrombokinasen unterscheiden sich durch die Geschwindigkeit ihrer Entstehung. Blutthrombokinase entsteht in Minuten, die sogenannte Gewebsthrombokinase entsteht rasch, in Sekunden. Das durch die Thrombokinase freigesetzte Thrombin leitet nun autokatalytisch einen ausgedehnten Plättchenzerfall ein. Damit wird die wichtigere plasmatische Gerinnung eingeleitet.

Im Plasma finden sich jedoch auch Substanzen, die die Gerinnung zu hemmen vermögen, die Antithrombokinasen und die Antithrombine. Durch die Antithrombokinasen und die Antithrombine wird die Thrombokinase und das gebildete Thrombin inaktiviert. Soll nun trotzdem eine Gerinnung stattfinden, so muß die Geschwindigkeit der Thrombinbildung so hoch sein, daß eine Inaktivierung durch Antithrombine nicht mehr mit der Inaktivierung Schritt halten kann.
Zu den Antithrombinen gehört das Fibrin selbst (Antithrombin I). Es vermag das Thrombin außerordentlich stark zu adsorbieren und damit ist es der freien Blutbahn entzogen (16).

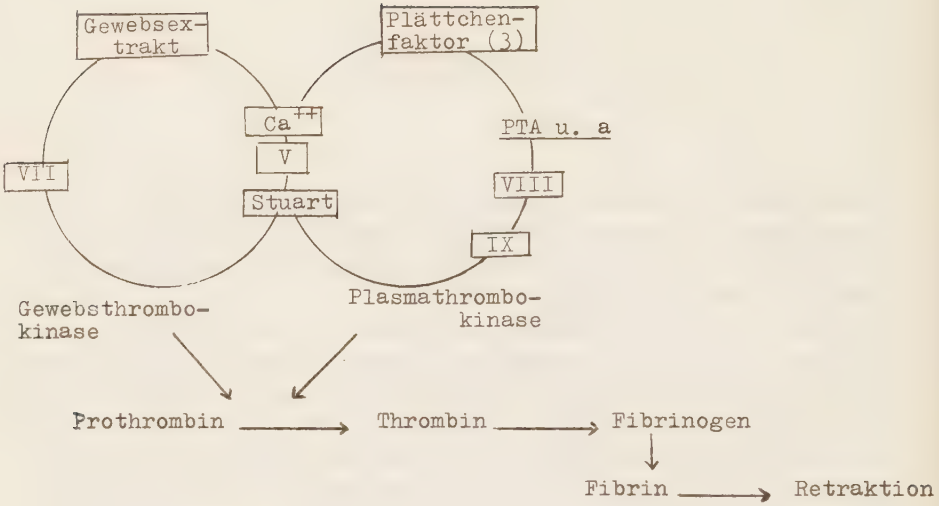

Abb.: 1
Schema der Gerinnung nach Rein und Schneider (13)

Neben den Inhibitoren der Gerinnung spielt aber auch die Fibrinolyse eine entscheidende Rolle als Gegenspieler der Gerinnung.
Da sich im gesamten Gefäßsystem Gerinnung und Fibrinolyse das Gleichgewicht halten, wird die dauernd stattfindende Gerinnung an den Gefäßwänden, die zur Abdichtung der Gefäße mit notwendig ist, durch die Fibrinolyse auf ein Mindestmaß beschränkt. Eine Störung dieses Gleichgewichtes führt zu pathologischen Erscheinungen, zur Thrombose oder zu einer hämorrhagischen Diathese. Weiterhin spielt die Fibrinolyse bei Entzündungsvorgängen, zur Auflösung der Fibrinfäden im Exsudat und bei der Offenhaltung seröser Höhlen, wie z.B. Drüsenkanälen und Ureter eine Rolle. Die Spaltung des Fibrins erfolgt durch das Plasmin, welches inaktiv als Profibrinolysin im Blutplasma vorhanden ist. Die Aktivierung erfolgt durch eine, analog zur Gerinnung im Blut auftretende plasmatische bzw. zelluläre Fibrinolysokinase. Diese wiederum entsteht aus der Profibrinolysokinase unter Mitwirkung von Lysokinasen. Damit setzt die Fibrinolysinbildung ein.

Gewebsläsionen entweder entzündlicher, traumatischer oder degenerativer Genese, sind die auslösenden Faktoren für die Aktivierung dieses Systems. Es werden dabei Lysokinasen frei, welche nun ihrerseits die Fibrinolyse in Gang bringen. Profibrinolysin kann außer durch Zelltraumen noch durch lokale Antigen-Antikörperreaktionen sowie durch bakterielle Enzyme aktiviert werden.

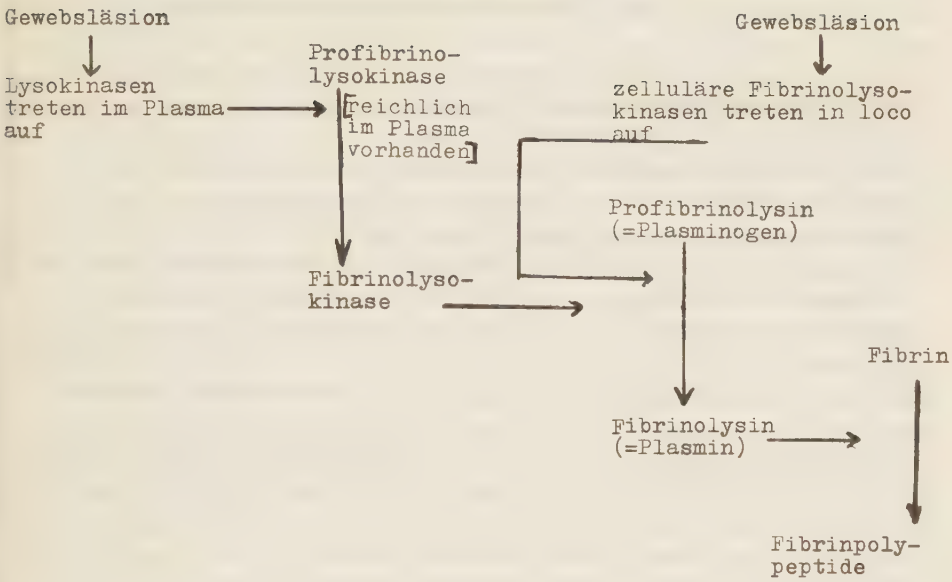

Abb.: 2
Schema der Fibrinolyse nach H. Stamm (18)

Wie die Gerinnung kann auch die Fibrinolyse durch eine Reihe von Inhibitorsubstanzen gehemmt werden. Dieser Vorgang ist ebenfalls sehr intensiv.

Das Fibrin wird als Antifibrinolysin I benannt. Es vermag Profibrinolysin und Fibrinolysin zu adsorbieren und damit aus der Blutbahn zu entfernen. Antifibrinolysin 2-4 sind Serum-Albumin, Serum-Globulin und Trypsininhibitoren. Die Fibrinolyse kann durch Fieberschock oder durch i.v. Infusion von Fibrinolysin ausgelöst werden, was zur Auflösung von Thromben wichtig sein kann.

Eine spontane generalisierte fibrinolytische Aktivität zeigt das Blut normalerweise nicht. Die Antiplasmine inaktivieren andauernd das Plasmin. Es kann jedoch vorkommen, daß eine spontane fibrinolytische Aktivität auftritt, und dann das Eigenfibrin in wenigen Stunden lysiert ist. Dies kann durch Vermehrung des Fibrinolysins oder durch Verminderung des Antifibrinolysins zustande kommen. Durch Zelluntergang, durch Strukturänderungen an den Zellen selbst (Allergene, Antigene), durch zelluläre Stoffwechselstörungen oder durch neurovegetative und hormonale Einflüsse kann Lysokinase freigesetzt werden. Verminderung des Antifibrinolysins kann entweder durch Leberfunktionsstörungen, durch neurohumorale Einflüsse oder durch Verbrauch bei der Inaktivierung über-

mäßiger Plasminmengen herbeigeführt werden (17).
Nach EICHENBERGER und SCHÖNHOLZER (4) kommt eine verstärkte Blutfibrinolyse vor:

1. nach Operationen oder Verletzungen an bestimmten Organen, z.B. Lunge, Leber, Milz, Pankreas, Prostata, Plazenta.
2. bei anaphylaktischen und pyrogenen Reaktionen.
3. bei einer Reihe von Stress Situationen, z.B. Operationen, Schock, Narkose, körperlich-seelischen Traumen, Röntgen und UV-Bestrahlung.
4. bei zahlreichen Krankheiten, z.B. Herzinsuffizienz, Hepatitis, Leberzirrhose, Pneumonie, Graviditätstoxikose, Schizophrenie, Prostatacarzinom, Leukämie, Thrombose, Haemorrhagie.
5. bei verschiedenen Pharmaka, besonders mit vegetativer und hormonaler Wirksamkeit.

Unter ganz bestimmten Umständen gelangen fötale Elemente in die mütterliche Blutbahn (20), was auch pathologisch-anatomischen Befunden entspricht. Man kann Teile aus Plazenta und Decidua z.B. in der mütterlichen Lunge finden. Bei diesem seltenen Ereignis wird die aus Plazenta und Decidua stammende Thrombokinase in den mütterlichen Kreislauf eingeschwemmt, was zu einer Aktivierung von Prothrombin und Thrombin führt. Durch diese überstürzte Gerinnung kommt es zur Abscheidung intravasaler Fibrinthromben und damit zu einem akuten Fibrinogenmangel. SCHNEIDER (22) konnte bei Ratten experimentell dieselben intravasalen Gerinnungsvorgänge durch Plazentaverletzung hervorrufen.

Es muß angenommen werden, daß bei der vorzeitigen Plazentalösung Bedingungen vorliegen, welche die Einschwemmung von Thrombokinase in das mütterliche Gefäßsystem fördern. Durch den mütterlichen Blutdruck kommt es zur Ausbildung des retroplazentaren Hämatoms. Teile von diesem Hämatom gelangen nun zusammen mit der Thrombokinase in die klaffenden maternen Uterusgefäße und bedingen das Krankheitsbild der geburtshilflichen Afibrinogenämie mit der folgenschweren hämorrhagischen Diathese. Hier handelt es sich um ein klinisch gut charakterisiertes Krankheitsbild. Dabei können aus Uterus, Plazenta und Fruchtwasser reichlich Aktivatorsubstanzen für Gerinnung und Fibrinolyse ins Blut geschwemmt werden. Mißt man die Blutfibrinolyse, so findet man sie stark gesteigert. Das ausgefällte Eigenfibrin wird in wenigen Stunden spontan lysiert. Jetzt tritt auch eine hämorrhagische Diathese auf, deren Ursache die Ungerinnbarkeit des Blutes infolge der eingetretenen Afibrinogenämie ist (21). Durch diese massive Einschwemmung wird eine rasche intravasale Gerinnung ausgelöst. Dabei werden das Fibrinogen und die Gerinnungsfaktoren verbraucht. Gleichzeitig kann eine totale Zerstörung von Fibrinogen und Fibrin und ebenso der Gerinnungsfaktoren durch Proteolyse eintreten. Die Folge davon ist ebenfalls eine Ungerinnbarkeit des Blutes.

Eine Hypokoagulabilität kann somit auf zwei Wegen zustande kommen: durch Defibrinierung infolge Thrombokinaseeinwirkung einerseits und andererseits durch eine Aktivierung des fibrinolytischen Systems mit Proteolyse des Fibrinogens, (8, 14, 15, 26).

Der Nachweis, ob die Gerinnung oder die Fibrinolyse im Vordergrund steht, ist außerordentlich schwierig. Folgende Möglichkeiten bestehen:

1. eine Aktivierung der Gerinnung und eine Aktivierung der Fibrinolyse durch Einschwemmung von Gewebsaktivatoren.
2. eine intravasale Gerinnung mit sekundärer Fibrinolyse, wobei die Fibrinolyse als Reaktion auf die Gerinnung aufzufassen wäre.
3. eine primäre Fibrinolyse und Proteolyse.

Anhand der Bestimmung der Gerinnungsfaktoren ist keine Entscheidung darüber möglich, welche von diesen drei Möglichkeiten die dominierende bzw. allein in Betracht kommende ist.

DUCKERT (3) fand bei Untersuchungen über intravasale Gerinnung und Fibrinolyse folgende Faktorenkonstellationen, die in Abb. 3 angegeben sind:

nach intravasaler Gerinnung	nach Fibrinolyse
vermindert	
Fibrinogen 5o mg.% Prothrombin unterschiedlich Faktor 5 unterschiedlich Faktor 8 Thrombocyten	Fibrinogen 5o mg. % Prothrombin unterschiedlich Faktor 5 4o-8o% Faktor 8
unverändert	
andere Faktoren	Thrombocyten andere Faktoren

Abb.: 3
Konstellation der Gerinnungsfaktoren nach intravasaler Gerinnung und Fibrinolyse

Bei geburtshilflichen Afibrinogenämien findet man häufig eine gesteigerte fibrinolytische Aktivität. Bei abgestorbenen und retinierten Früchten kann es ebenfalls zu Gerinnungsstörungen kommen. In der Literatur wurden 17 Fälle mitgeteilt, mit in utero abgestorbenen und manchmal über Wochen verhaltenen Früchten (5). Sämtliche Fälle zeigten die Zeichen der Hypofibrinogenämie. Bei 7 Patientinnen wurde auch die fibrinolytische Aktivität des Blutes untersucht, die sich jedoch nur einmal als erhöht erwies (7). Auch bei Fruchtwasserembolie wurden Afibrinogenämien festgestellt. Hierbei kommt es zu einem Schock und außerdem noch zu schwersten Blutungen auf der Basis eines Fibrinogenmangels (5). Das Fruchtwasser löst durch die in ihm enthaltenen Partikel eine intravasale Gerinnung aus. Bei der Fruchtwasserembolie konnte auch vielfach eine erhöhte fibrinolytische Aktivität des Blutes nachgewiesen werden (1). ALBRECHTSEN und TROLLE konnten zeigen, daß das Fruchtwasser selbst keine fibrinolytische Aktivität besitzt, jedoch große Mengen einer Vorstufe des Aktivitators des Profibrinolysins enthält und reich an Trypsininhibitoren ist. - Auch bei normalen Geburten konnten in letzter Zeit vermehrt Blutungen nachgewiesen werden, die durch einen mehr oder minder starken Fibrinogenmangel bedingt waren. So konnte NIESERT (10) in zwei von ihm untersuchten Fällen eine hochgradig gesteigerte fibrinolytische Aktivität des Blutes nachweisen.

Durch den proteolytischen Abbau von Fibrinogen bzw. Fibrin durch Plasmin entstehen ungerinnbare Fibrinogenderivate, die durch Thrombin nicht mehr zur Gerinnung gebracht werden können (6). Findet ein proteolytischer Abbau von Fibrinogen vor der Gerinnung des Blutes statt, so entstehen ungerinnbare Fibrinogenderivate. Sie bleiben nach der Gerinnung im Serum nachweisbar. Nur ein kleiner Teil wird davon während der Fibrinbildung mit in das Gerinnsel eingeschlossen. Wird ein Fibringerinnsel nach der Blutgerinnung durch Plasmin wieder aufgelöst, so können ebenfalls Fibrinogen- bzw. Fibrinbruchstücke im Serum nachgewiesen werden (6). Diese Fibrinogenderivate sind neben mehreren kleinen Peptiden die Spaltprodukte "D", mit dem Molekulargewicht von 83000 und "E", mit dem Molekulargewicht von 35000 (12). Beide Fibrinogenderivate werden von Antifibrinogenserum präzipitiert und wirken als Antikoagulans (11). Diese Fibrinogenbruchstücke verzögern die Gerinnung des Blutes, da sie die Polymerisation des Fibrinmonomers zum Fibringerinnsel hemmen (19, 23, 24) und als Antithrombin wirken, (Antithrombin VI nach Kowalski).

Das Derivat "D" wird bei der Gerinnung des Blutes in den Thrombus mit eingebaut, was zu einer Störung der Fibrinvernetzung führt, durch elektronenoptische Aufnahmen konnte dies nachgewiesen werden (19). Die Feinstruktur ist damit zerstört, das Gerinnsel ist defekt.

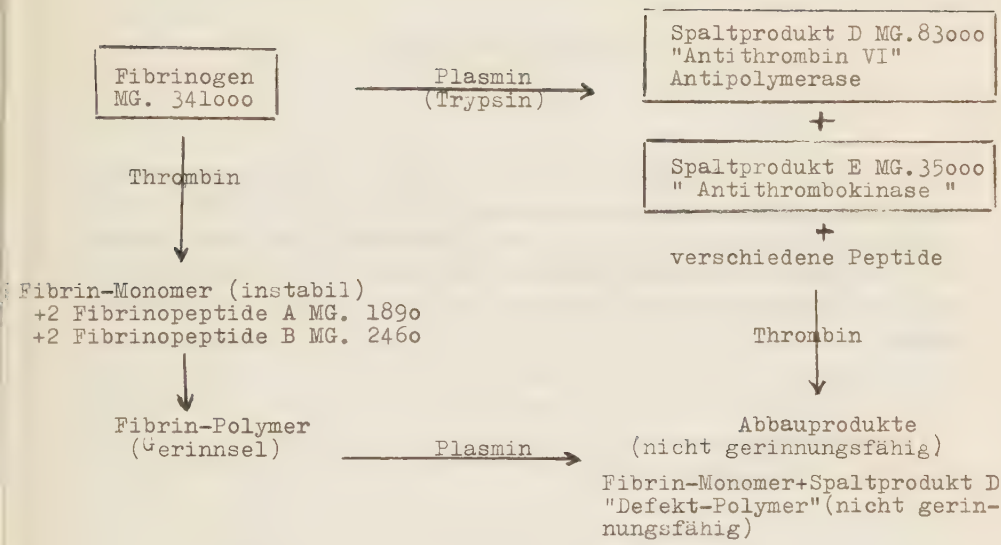

Abb.: 4
Schematische Darstellung der enzymatischen Umwandlung von Fibrinogen nach G. Schwick (25)

Bei verschiedenen Krankheitsbildern mit starker Fibrinolyse wurden diese Derivate in letzter Zeit immunologisch und gerinnungsanalytisch nachgewiesen (19).

II. FRAGESTELLUNG

Es sollte nun mit der Euglobulinlyse untersucht werden, inwieweit es unter der Geburt zu einer Aktivierung des fibrinolytischen Fermentsystems kommt. Weiterhin sollte mit immunologischen Methoden geklärt werden, ob es dabei zum Auftreten von Fibrinogenderivaten kommt und inwieweit auch gerinnungsphysiologisch diese Fibrinogenderivate anhand ihrer Antithrombinaktivität erfaßt werden können.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Technik der Blutgewinnung:

Zur Venenpunktion werden konuslose innenpolierte Kanülen aus V2A Stahl verwendet. Ein Nadelhalter dient zur Führung der Nadel. Bei richtiger Punktion spritzt das Blut im Strahl. Um das Blut auch nicht einer Aktivierung der beim Einstich freiwerdenden Gewebsfaktoren auszusetzen, verwarfen wir den ersten Teil des Blutes.

Das gewonnene Blut ließen wir eine Stunde im Wasserbad bei 37 Grad stehen. Dann wurde das Gerinnsel bei 4500 U/min über 10 Minuten abzentrifugiert und das Serum abgehebert. Das inkubierte Serum wurde in der Tiefkühltruhe bei minus 20 Grad eingefroren, damit es später weitgehend unverändert zu den Versuchen zur Verfügung steht.

Zur Gewinnung des Plasmas wurde frisch entnommenes Blut im Verhältnis 1 : 10 mit Natriumzitrat verdünnt und anschließend bei 4500 U/min über 10 Minuten zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde abgehebert und steht dann zur Weiterverwendung zur Verfügung.

1) Gerinnungsphysiologische Untersuchungsmethoden

a) Thrombelastographie nach Hartert

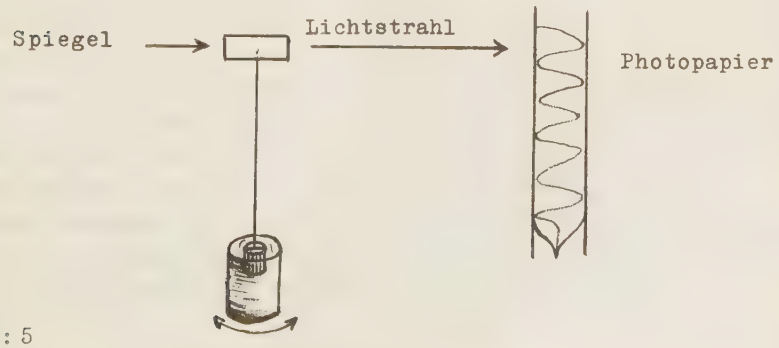

Abb.: 5
Arbeitsweise des Thrombelastographen nach Hartert

Eine Küvette aus innenpoliertem V2A Stahl wird zu 2/3 mit Venenblut gefüllt und sofort anschließend in das bei konstanter Temperatur von 37 Grad arbeitende Gerät gebracht. Von oben wird ein ebenfalls polierter Stempel in die Küvette eingebracht. Dabei soll das Blut nicht über den oberen Rand der Küvette reichen. Abschließend wird über das Blut eine flüssige Paraffinschicht geschichtet, die eine Austrocknung des Blutes verhindern soll. Jetzt wird der Apparat in Gang gesetzt und die Küvette beginnt langsam hin und her zu rotieren. Die Zeit von der Venenpunktion bis zur Ingangsetzung des Apparates wird mit einer Stoppuhr gemessen. Beginnt nun das Blut zu gerinnen, so wird der Stempel durch das sich bildende Fibringerinnsel im selben Rhythmus wie die Küvette mitbewegt. Diese Bewegungen werden durch einen Lichtstrahl über einen Spiegel auf ein Photopapier projiziert, welches sich mit einer Geschwindigkeit von 2 mm pro Minute vorwärtsbewegt. Nach der Entwicklung des Films läßt sich durch Ausmessen der Kurve die Veränderung am Gerinnsel genau bestimmen.

b) Messung der Euglobulinlyse mit dem TEG

Zu diesem Zweck haben wir eine eigene Meßmethode entwickelt.

REAGENZIEN:

Na-Citratlösung 3,8 % nach Westergreen
Diäthylbarbitursäure-Pufferlösung pH 6,7 Behringwerke
Topostasin Roche (Pulver) 3000 N.I.H.-Einheiten
steriles Thrombin
Aqua dest. eisgekühlt
Essigsäure 1 %

Das gelöste Topostasin wird in 5 ml Aqua dest. gelöst und in kleinen Portionen gleichzeitig eingefroren. Jede Menge wird nur einmal verwendet.
Zur Messung wird nun Plasma im Verhältnis 1 : 15 mit eisgekühltem Aqua dest. verdünnt. Das ganze wird mit 1 % Essigsäure auf pH 5,1 eingestellt und danach über 10 Minuten bei 4500 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und das Präzipitat durch Umstülpen des Glases auf einem Fließpapier etwas abgetrocknet. Das Präzipitat wird anschließend in Diäthylbarbitursäurepuffer von pH 7,6 gut gelöst. Von dieser Lösung kommen 0,3 ml in die Küvette des TEG und werden mit 0,02 ml einer Topostasinlösung, welche durch Auflösung des oben angegebenen Topostasinpulvers mit 10 ml Aqua dest. hergestellt wird, durch dreimaliges Eintauchen des Stempels des TEG gut durchgemischt und dann der Apparat mit der gefüllten Küvette in Gang gesetzt. Darübergeschichtetes Paraffinum liquidum schützt vor Austrocknung.

c) Bestimmung der Thrombinzeiten an erhitzten und nicht erhitzten Seren

REAGENZIEN:

BaSo 4 reinst Merck Nr. 1750
Testthrombin Behringwerke 60 NIH-Einheiten
Aqua dest.
Kontrollseren

Zur Ermittlung der Thrombinzeiten wird frisch gewonnenes Blut, das im Verhältnis 1 : 10 mit Natriumzitrat versetzt wurde und danach 10 Minuten bei 4500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert wurde, benützt. Das abgeheberte Plasma wird mit 100 mg BaSo4 pro Milliliter versetzt und bei 37 Grad 10 Minuten geschüttelt. Es sollen nicht mehr als drei Milliliter Plasma auf einmal verwendet werden. Danach wird das Bariumsulfat bei einer Umdrehungszahl von 4500 in der Minute abzentrifugiert. Das überstehende Plasma wird abgehebert. Mit diesem so behandelten Plasma werden die Seren der zu untersuchenden Patientinnen ausgetestet. Dazu wird eine Ampulle Testthrombin mit 1 ml Aqua dest. versetzt. Diese Lösung wird an einem Kontrollserum, wir verwendeten Serum eines gesunden Mannes, so ausgetestet, daß bei einer Zusammensetzung von 0,1 ml dieses Serums mit 0,1 ml des oben hergestellten Plasmas und 0,1 ml der Thrombinlösung, eine Gerinnung ungefähr nach 30 Sekunden auftritt. Die Thrombinlösung ist nur höchstens 5 Minuten verwendbar und muß in eisgekühltem Wasser während dieser Zeit aufbewahrt werden. Der nun bei dieser Eichung gefundene Wert, der um 30 Sekunden liegen soll, gilt als Nullwert für die zu untersuchenden Seren, die mit der selben Thrombinlösung ausgetestet werden. Es werden immer Doppelbestimmungen durchgeführt. Ebenfalls wird die Thrombinzeit an den gleichen Seren, die vorher 1/2 Stunde bei 57 Grad erhitzt wurden bestimmt. Durch das Erhitzen wird die durch die Fibrinogenderivate bedingte Antithrombinaktivität zerstört.

2) Immunologische Methoden

Bestimmung der Fibrin(ogen)-Derivate nach der Doppeldiffusionsmethode nach Ouchterlony.

Prinzip: In einem Agargel diffundieren Antikörper und Antigen gegeneinander. Am Treffpunkt bildet sich im optimalen Konzentrationsbereich eine Immunopräcipitationslinie.

REAGENZIEN:

Antifibrinogenserum vom Kaninchen, Behringwerke Marburg,

Rein Agar, Behringwerke Marburg,
0,9 % NaCl-Lösung
Objektträger 2,6 cm auf 7,6 cm.

Herstellung der Agarplättchen:

1 Gramm Rein Agar wird in 100 ml 0,9 NaCl-Lösung im kochenden Wasserbad bis zur vollständigen Auflösung des Agars erhitzt. Es entsteht eine klare Lösung. Davon werden jeweils 4 ml auf einen Objektträger pipettiert, der zuvor in einem Äther-Alkohol-Gemisch (1 : 1) sorgfältig entfettet wurde. Das Gießen erfolgt auf einer mit einer Wasserwaage horizontal eingestellten Glasplatte. Mit einem Korkbohrer von 2 Millimeter Durchmesser werden nach der in Abbildung 6 dargestellten Skizze aus dem erstarrten Agargel gleich große Löcher ausgestanzt.

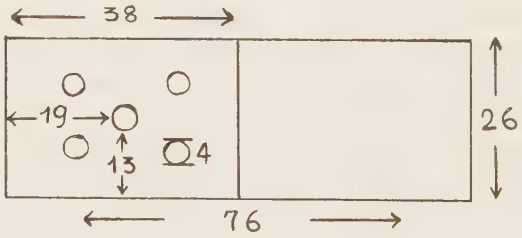

Abb.: 6
Vorlage zur Herstellung der Agarplättchen für die zweidimensionale Immundiffusion nach Ouchterlony. Angaben in Millimeter

Der Boden der ausgestanzten Löcher wird mit Hilfe einer fein ausgezogenen Pipette mit etwas erhitztem Agar bedeckt. In das zentrale Loch der Rosette werden 0,03 ml des unverdünnten Antiserums und in die darum liegenden Löcher je 0,03 ml des zu untersuchenden Serums eingefüllt. Zur Diffusion werden die Plättchen in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Ablesung der entstandenen Präcipitate erfolgt nach 24 Stunden.

Untersuchungsergebnisse mit der Thrombelastographie nach Hartert:

Bei 21 Frauen unter der Geburt und im Wochenbett wurde das Blut thrombelastographisch untersucht. Die Blutentnahme für den 0-Wert erfolgte in den meisten Fällen in der Eröffnungsperiode zwischen 10 Stunden bis 12 Minuten vor der Ge-

burt des Kindes. Einmal erfolgte sie 2 Tage vor der Geburt. Weitere Blutentnahmen folgten 1 Stunde, 24 Stunden und 72 Stunden post partum. Beurteilt wurde der r-Wert und der k-Wert des TEG. Dabei versteht man unter k die Zeit, bis ein TEG mit der Amplitude a = 1 Millimeter, die Amplitude a = 20 Millimeter erreicht. Nimmt man einen normalen Streubereich für die r-Werte von 9 bis 14 Minuten an (2), so zeigt sich bei fünf Patientinnen (Patient Nr. 6, 7, 12, 14, 17) eine auffällige Verkürzung des r-Wertes in der Eröffnungsperiode, die sich aber 1 Stunde post partum wieder verlängert (siehe Tab. 1). Bei anderen Patientinnen liegen die r-Werte in der Eröffnungsperiode an der unteren Grenze. In den meisten Fällen tritt 1 Stunde post partum eine Verkürzung des r-Wertes auf.

Pat	OW	1STd	1Tg	3Tg
1	13'30"	8'	11'	10'30"
2	12'	10'	7'30"	11'
3	13'	1 1'30"	11'30"	10'
4	15'	11'40"	10'15"	4'30"
5	11'	9'45"	12'30"	12'30"
6	8'	10'15"	10'45"	8'45"
7	5'30"	10'	7'45"	9'15"
8	11'20"	9'40"	9'	10'20"
9	14'	12'30"	-	-
10	13'30"	10'45"	13'15"	14'
11	11'	9'25"	11'50"	10'30"
12	8'20"	9'	8'45"	7'45"
13	9'45"	11'30"	12'40"	10'50"
14	7'	12'25"	13'	11'
15	9'	9'	7'	10'30"
16	12'30"	7'15"	9'30"	13'15"
17	3'40"	9'	11'15"	9'15"
18	12'	6'	14'	7'
19	8'30"	9'15"	10'20"	8'
20	12'15"	10'	11'45"	8'15"
21	10'30"	9'30"	8'30"	11'50"

Tab.: 1
Die r-Werte der Frauen unter der Geburt und 1 Stunde, 24 Stunden und 72 Stunden nach der Geburt

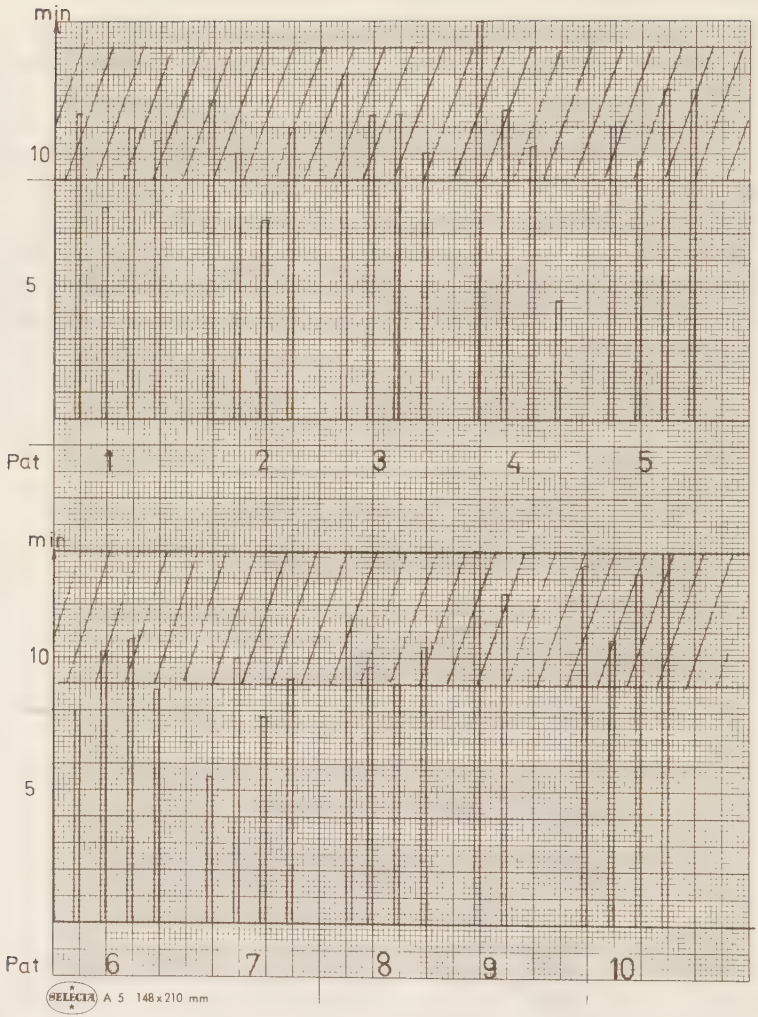

Abb.: 7
Schematische Darstellung des Verlaufs der r-Werte vor der Geburt (1. Säule), 1 Stunde, 1 Tag und 3 Tage nach der Geburt, (2., 3. und 4. Säule)

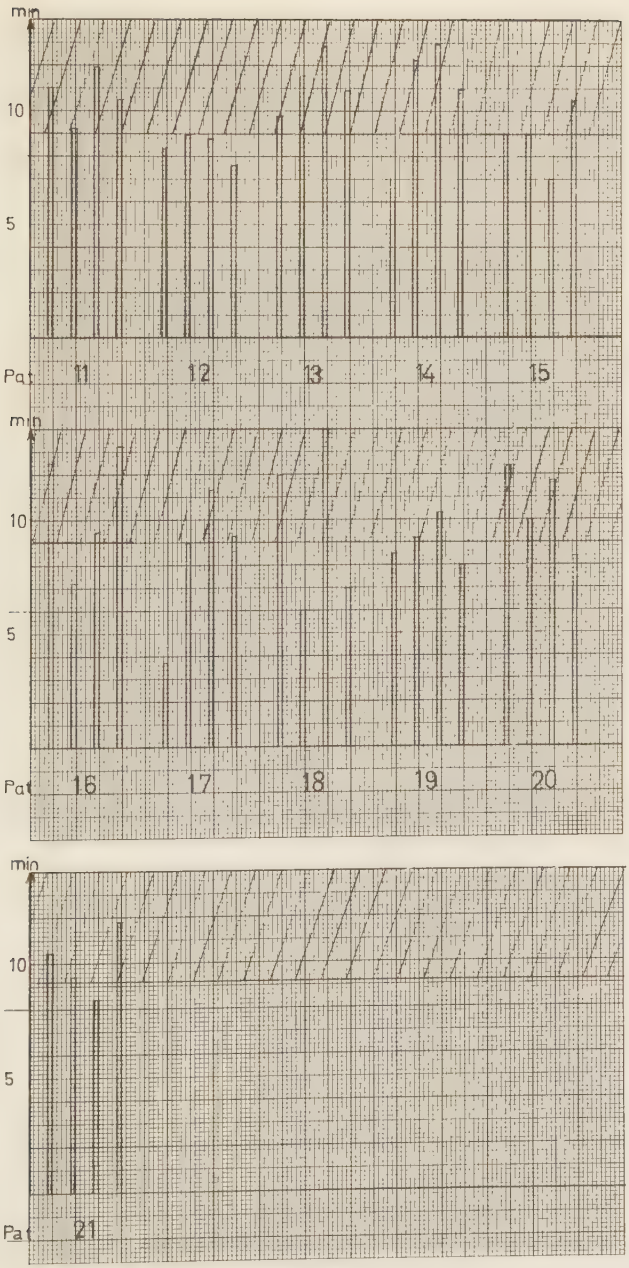

Abb.: 7 Fortsetzung der Abbildung

Der Normbereich des k-Wertes liegt bei 5 bis 8 Minuten. Bei unseren Patientinnen fanden wir, wie auch BELLER, eine Verkürzung des k-Wertes unter der Geburt (Tab. 2). Bei 5 Fällen fand sich eine extreme Verkürzung der Zeiten eine Stunde post partum (Pat. 2, 6, 11, 12, 19).

Pat	0W	1 Std	1 Tg	3 Tg
1	5'	4,5'	5'	5'
2	8,5'	3,5'	3'	3,5'
3	3,5'	5,5'	4'	2'
4	5'	5'	8,5'	4,5'
5	5,5'	5'	4,5'	3,5'
6	4'	2,5'	2,5'	3'
7	3,5'	4'	5'	3,5'
8	2,5'	3'	–	2'
9	3,5'	3,5'	–	–
10	3,5'	5'	3,5'	5'
11	5,5'	4'	8'	3,5'
12	5,5'	4'	8'	3,5'
13	4,5'	4,5'	4'	8,5'
14	–	9,5'	4,5'	–
15	–	–	–	2,5'
16	6'	6'	5,5'	4'
17	7'	–	4,5'	4'
18	5'	7'	5'	–
19	6,5'	5,5'	2,5'	–
20	4'	–	3'	5'
21	3'	2,5'	2'	2'

Tab.: 2
Darstellung der k-Werte vor der Geburt, 1 Stunde, 1 Tag und 3 Tage nach der Geburt

Vergleicht man die gefundenen Euglobulinlysezeiten mit den von uns bei 10 gesunden Männern gefundenen Werten, mit einer Lysezeit von durchschnittlich 3 Stunden, so fällt in der Eröffnungsperiode bei allen Fällen eine starke Hemmung der Fibrinolyse gegenüber den normalen Werten auf, die sich eine Stunde post partum bei 17 von 21 Fällen wieder beträchtlich vermindert.

Vergleichs-personen	Stunden
1	2,35
2	3,39
3	3,10
4	4,50
5	2,55
6	2,00
7	2,25
8	2,40
9	3,08
10	3,10

Tab.: 3
Euglobulinlysezeiten von
10 gesunden Männern

Bei 3 Patientinnen (Pat. 13, 18, 21) bleibt die Hemmung auch eine Stunde post partum fortbestehen, bei einer Patientin ist sie noch verstärkt (Pat. 8). Der Verlauf im Wochenbett zeigt, daß sich die Hemmung bei 10 Patientinnen wieder verstärkt auszuprägen beginnt.

Pat	0W	1 Std	1 Tg	3 Tg
1	>4 Std	>3 Std	3 Std 36'	10 Std 41'
2	>4 "	2 " 20'	—	9 " 20'
3	11 "	4 " 30'	6 " 23'	>10 "
4	>25 "	11 " 15'	6 " 56'	>14 "
5	>17 "	2 " 58'	>7 "	2 " 50'
6	>19 "	4 " 2'	>17 "	>12 "
7	>16	3 " 47'	>17 "	18 " 7'
8	5 " 50'	>9 "	17 " 45'	6 " 10'
9	>20 "	13 " 10'	—	—
10	>28 "	8 "	11 " 40'	15 " 10'
11	>8 "	7 " 50'	5 " 52'	4 " 50'
12	7 " 50'	6 " 35'	5 " 40'	2 " 37'
13	>12 " 30'	>12 " 30'	8 "	>12 " 30'
14	>10 " 30'	6 "	4 " 22	6 " 15'
15	6 " 5'	1 " 5'	4 " 25	14 " 30'
16	7 " 50'	1 " 50'	4 " 10'	8 " 50'
17	13 " 20'	2 " 35'	4 " 15'	3 " 20'
18	>17 " 30'	>17 "	7 " 30'	12 " 10'
19	13 " 15'	2 " 30'	13 " 10'	11 "
20	18 " 20'	6 " 30'	5 " 55'	8 " 45'
21	>17 " 30'	>17 " 30'	3 " 50'	>17 "

Tab.: 4
Euglobulinlysiszeiten in Stunden

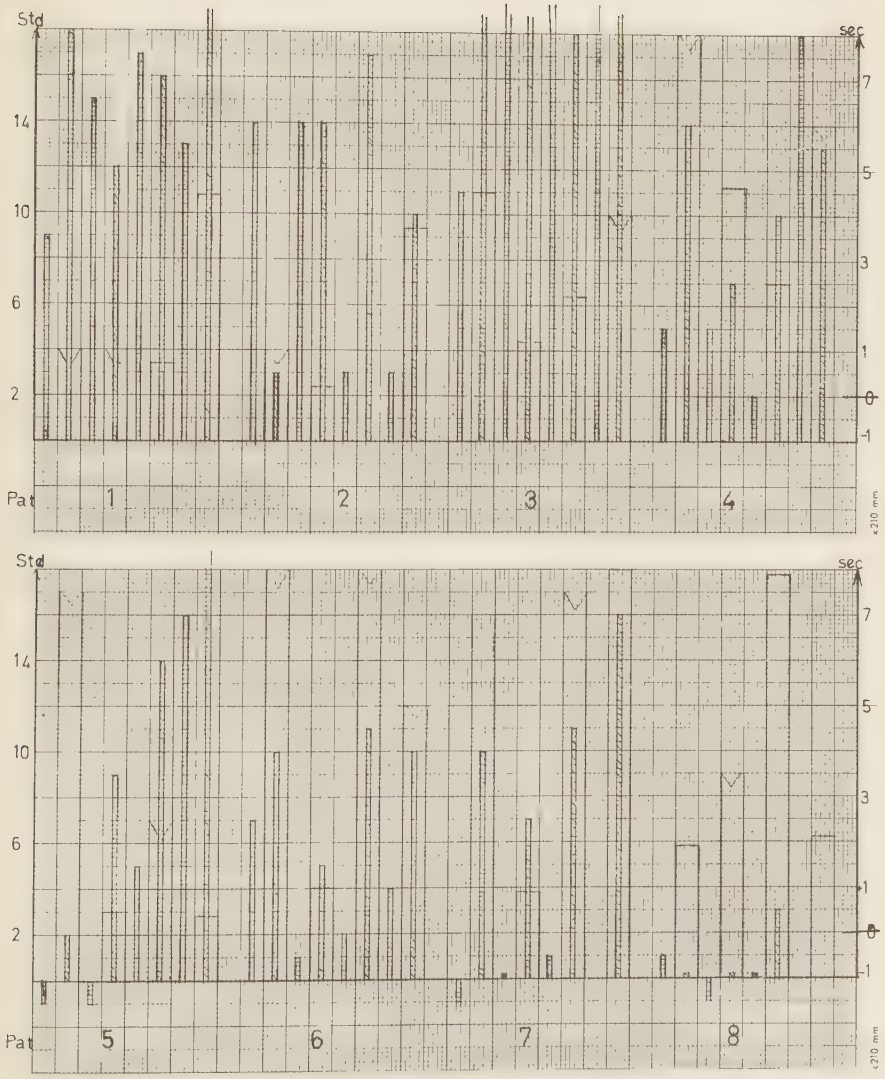

Abb.: 8
Graphische Darstellung der Euglobulinlysezeiten und der Thrombinzeiten mit erhitzten und nicht erhitzten Seren

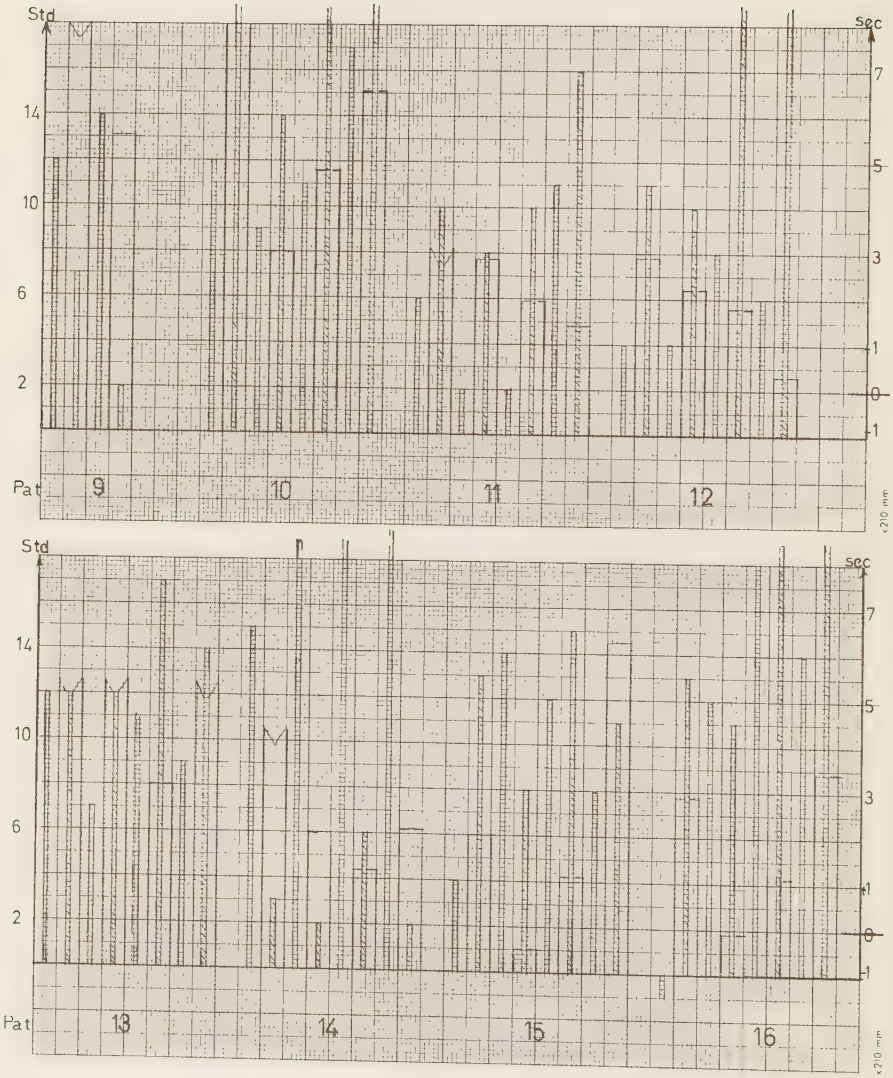

Abb. : 8
Fortsetzung der graphischen Darstellung

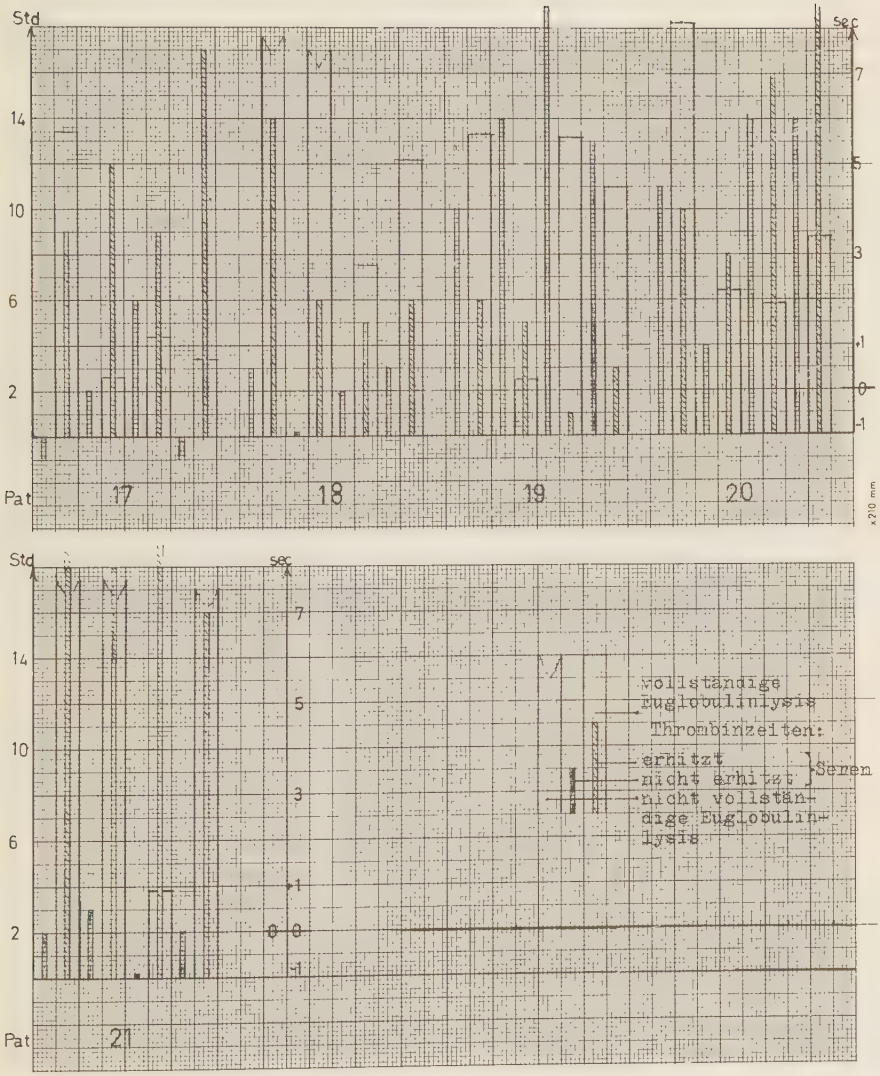

Abb.: 8
Fortsetzung der graphischen Darstellung

Immunologische Untersuchungen: (Tab.: 5)

Bei der zweidimensionalen Immundiffusion nach Ouchterlony fanden sich bei uns bei Kontrolluntersuchungen mit den verwendeten Immunseren Präzipitationslinien im Konzentrationsbereich von 1 : 18 bis 1 : 20. Untersucht wurden dabei ebenfalls 10 gesunde Männer.
Vor der Geburt zeigte sich in 11 von 21 Fällen ein niedrigerer Titer als bei den Kontrolluntersuchungen. Viermal fand sich eine Erhöhung der Spaltprodukte (Pat. 3, 7, 13, 20) und sechsmal blieben sie im Normbereich.
Eine Stunde post partum war der Titer in 9 Fällen unter dem Normbereich, 5mal nahm er zu und in 7 Fällen lag er wieder im Bereich der Norm. Einen Tag nach der Geburt liegen 6 Werte im Bereich der Norm, zwei liegen mit einem höheren Titer über der Norm und 12 Werte zeigen eine verringerte Spaltproduktkonzentration.
Am dritten Wochenbettstag liegen die Werte nicht mehr so stark gestreut wie an den vorhergegangenen Tagen. Sie scheinen sich um den Normbereich zu gruppieren. 10 Werte liegen unter der Norm, 6 Werte liegen darüber.

Pat:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
OW	14	11	26	17	14	20	28	18	8	18	16	20	24	16	16	14	16	18	16	24	16
1 Std	14	14	28	12	14	20	22	18	14	18	16	18	22	16	24	18	18	16	18	28	14
1 Tag	24	10	18	12	4	14	18	20	–	16	12	12	18	10	20	16	18	14	14	26	10
3 Tag	20	14	22	16	14	22	22	22	–	16	22	16	20	16	20	16	14	12	14	26	16

Tab.: 5
Titer bei der zweidimensionalen Diffusionsmethode nach Ouchterlony

Betrachtet man den Verlauf der Spaltproduktkonzentration, so kommt es zu keiner signifikanten Veränderung.

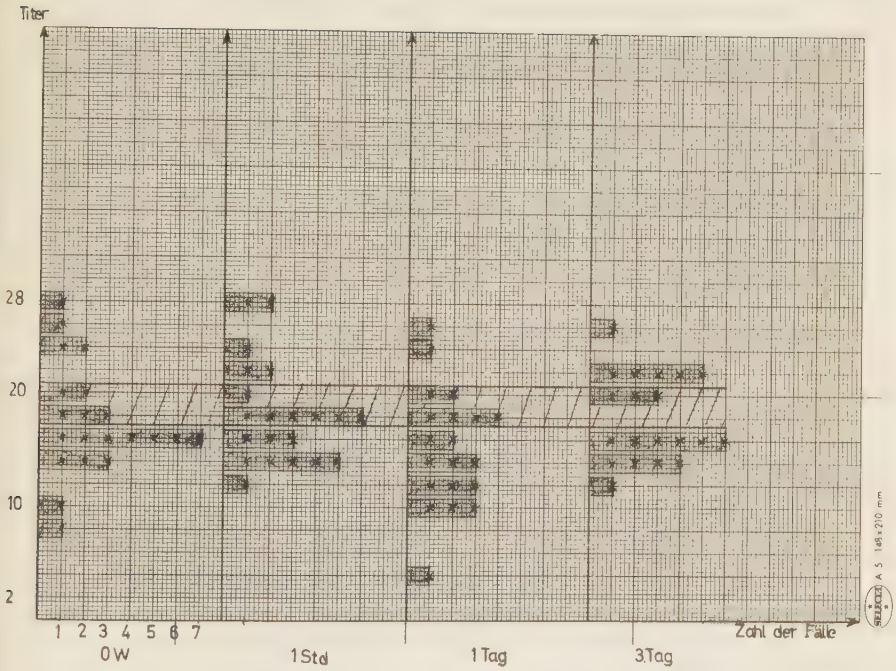

Abb.: 9
Darstellung des Verlaufs der Titer bei der zweidimensionalen Diffusionsmethode nach Ouchterlony

Bestimmung der Thrombinzeit: (Tab.: 6)

Die Thrombinzeit wurde zum Nachweis gerinnungsaktiver Fibrinogenderivate gemessen.

Pat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0W	3,5"	6"	4,5"	1,5"	-2,5"	2,5"	-2,5"	1"	5"	5"
	8"	0,5"	9"	6"	0"	4"	4"	-0,5"	2,5"	9"
1Std	6,5"	6,0"	14"	1,5"	-1,5"	-0,5"	-1"	-1,5"	6"	3,5"
	5"	6"	12"	2,5"	3,5"	1,5"	2,5"	-1"	0"	6"
1Tag	7,5"	0,5"	14"	0"	1,5"	0"	0,5"	-1"	–	4,5"
	7"	7,5"	8"	4"	6"	4,5"	4,5"	-1"	–	9,5"
3Tag	5,5"	0,5"	15,5"	8"	7"	1"	-1,5"	—	—	7,5"
	10,5"	4"	10"	5,5"	9,5"	4	7	—	—	11

Pat	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
0W	2"	1"	5"	6,5"	1"	-3"	-2"	0,5"	4"	4,5"	0"
	4"	4,5"	5"	0,5"	6,5"	5,5"	3,5"	6"	2"	4"	7"
1Std	0"	1"	2,5"	6,5"	6"	5"	0"	-1"	6"	1,5"	0,5"
	3"	4"	5"	0"	3"	4,5"	5"	2"	1,5"	3"	8"
1Tag	0"	3"	4,5"	13"	5"	8"	2"	0"	8,5"	6"	0"
	4"	10"	7,5"	2"	6,5"	8,5"	3,5"	1,5"	-0,5"	7"	8"
3Tag	4,5"	2"	3,5"	9"	3"	6"	-2"	0,5"	5,5"	6"	0"
	7"	9,5"	6"	0"	4,5"	11"	7,5"	2"	0,5"	11,5"	7"

Tab.: 6
Thrombinzeiten der nicht erhitzten Seren (1. angegebener Wert) und der erhitzten Seren (2. angegebener Wert)

Die Thrombinzeiten der nicht erhitzten Seren waren in 12 Fällen eine Stunde post partum länger als in der Eröffnungsperiode, zweimal blieben sie gleich und siebenmal waren die Zeiten kürzer als in der Eröffnungsperiode.
Einen Tag nach der Geburt war die gemessene Thrombinzeit bei 14 Patientinnen länger als eine Stunde post partum, fünfmal war sie kürzer und einmal blieb sie gleich. Am dritten Tag nach der Geburt war in 14 Fällen die Zeit länger als der 0-Wert, zweimal war er kürzer und dreimal wieder wie der 0-Wert.
Die Auswertung der Thrombinzeiten bei den erhitzten Seren ergibt in 15 von 21 Fällen eine Verkürzung des Wertes eine Stunde post partum gegenüber dem 0-Wert. Viermal war eine Verlängerung festzustellen und zweimal änderten sich die Werte nicht. Am ersten Wochenbettstag verlängerten sich die Zeiten jedoch

wieder in 12 Fällen gegenüber dem 0-Wert, darunter in 8 Fällen sogar noch über den 0-Wert hinaus. Am 3. Tag post partum stieg die Thrombinzeit 13mal über den 0-Wert und nur dreimal war sie kürzer als der 0-Wert.

IV. DISKUSSION

Es läßt sich zeigen, daß bei Frauen unter der Geburt die spontane Euglobulinlyse im Vergleich mit unseren Kontrollpersonen gehemmt ist. Diese Hemmung verschwindet eine Stunde post partum, um dann im Wochenbett wieder aufzutreten. Diese Befunde stimmen mit den Untersuchungen von NIESERT (10) überein, der eine Stunde post partum einen gesteigerten Fibrinabbau finden konnte. ELSNER (5) fand während der Geburt ein Absinken der gesamtfibrinolytischen Aktivität, wobei er die durch Streptokinaseaktivierung erzielte proteolytische Aktivität versteht. Das Antifibrinolysin (Antiplasmin) stieg nach den Untersuchungen von ELSNER an. Trotz Ansteigen des Antifibrinolysins kommt es, wie aus Tabelle 4 zu ersehen ist, eine Stunde nach der Geburt zu einer deutlichen Beschleunigung der Euglobulinlyse. Diese kann nicht wie die Untersuchungen von ELSNER ergeben haben, durch Vermehrung des Plasminogens und Aktivierung desselben unter der Geburt, oder durch Verminderung des Inhibitors ausgelöst worden sein, sondern ist die Folge des Auftretens eines Aktivators. Dieser wird gleichzeitig mit dem Plasminogen bei der Gerinnung des Blutes an das Fibrin adsorbiert und löst damit trotz hohen Inhibitorspiegels im strömenden Blut die Fibrinolyse aus. Wie die Untersuchung der Fibrinogenspaltprodukte, welche sich unter der Geburt und im Wochenbett uncharakteristisch verhielt ergibt, läßt sich eine Hyperplasminämie als Ursache der gesteigerten Euglobulinlyse eine Stunde post partum ausschließen, da es zu keiner Vermehrung der Fibrin(ogen)spaltprodukte nach der Geburt kommt, also keine Fibrinogenolyse auftritt. Bei der Mehrzahl der Fälle zeigt sich eine Verlängerung der Thrombinzeit in der Eröffnungsperiode, die sich eine Stunde post partum noch verstärkt.

Diese Verlängerung der Thrombinzeit deutet auf eine Vermehrung der thrombinhemmenden Inhibitoren hin. Bei dem hier wirksamen Antithrombin kann es sich also nicht um das Antithrombin III handeln, sondern es muß sich um ein der sofort wirksamen Antithrombine handeln. Wie LATALLO und Mitarbeiter zeigen konnten (9), entsteht bei der Fibrinolyse ein Fibrinbruchstück, das den ersten Schritt der Fibrinogenumwandlung durch das Thrombin, nämlich die Abspaltung der Polypeptide hemmt. Das Auftreten der Thrombinzeitverlängerung mit den kürzesten Euglobulinlysezeiten eine Stunde post partum (Tabelle 4 und 6) weist darauf hin, daß es sich hier um das von LATALLO und Mitarbeitern beschriebene

Antithrombin VI handeln könnte. Dieses Antithrombin VI wird durch Erhitzen der Seren auf 56 Grad über 1/2 Stunde zerstört. Es läßt sich nun zeigen, daß diese Verlängerung der Thrombinzeit, die eine Stunde post partum gefunden wurde, nach Erhitzen der Seren verschwindet (Tab. 6), so daß praktisch die Thrombinzeiten der erhitzten und nicht erhitzten Seren umgekehrt verlaufen.

Weiter konnten LATALLO und Mitarbeiter zeigen, daß bei Fibrinabbau neben Antithrombin VI eine Substanz entsteht, die die Polymerisationsgeschwindigkeit des Gerinnsels hemmt. Dieser Polymerisationshemmer läßt sich mit dem TEG nach Hartert nachweisen, da der Wert k ein Maß für die Geschwindigkeit der Gerinnselbildung darstellt. Eine signifikante Veränderung der k-Werte läßt sich eine Stunde post partum bei den von uns untersuchten Fällen nicht nachweisen. Dies schließt zumindest ein Auftreten des Polymerisationshemmers in größeren Konzentrationen aus. Allerdings ist die Methode zum Nachweis niederer Konzentrationen des Polymerisationshemmers zu unempfindlich.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Bei den von uns untersuchten Gebärenden ließ sich mit Hilfe der Euglobulinlysis eine Zunahme der fibrinolytischen Aktivität eine Stunde post partum nachweisen.
Dieser gesteigerte Fibrinabbau dürfte durch Freisetzen des Antithrombin VI für die Verlängerung der Thrombinzeit verantwortlich sein. Das gleichzeitige Auftreten des beim Fibrinabbau entstehenden Polymerisationshemmers konnte nicht nachgewiesen werden, da die Methode zu unempfindlich war. Eine Vermehrung der immunologisch nachweisbaren Spaltprodukte trat unter der Geburt nicht auf.

LITERATURVERZEICHNIS

1) Albrechtsen, O.K. und D. Trolle:
Acta haemat. 6, 376 (1955)

2) Beller, F.K.: Die Gerinnungsverhältnisse bei der Schwangeren und beim Neugeborenen. Joh. Ambros. Barth Verlg. Leipzig (1957)

3) Duckert, F.: Diagnostic différentiel de la coagulation intravasculaire et de la fibrinolyse. Schweiz. med. Wschr. 39, 1375 (1964)

4) Eichenberger, E. und G. Schönholzer:
Fibrinolyse als Form der unspezifischen Reizbeantwortung. Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. Wiesb. (1956)

5) Elsner, P.: Fibrinolyse in Schwangerschaft und Geburt, Fortschr. d. Geburtsh. u. Gynäk. S. Karger Basel (1957)

6) Garner, R.L.: The fibrinolytik enzyme of haemolytic streptococi. J. Biol. Chem. 36, 109 (1935)

7) Hodpkinson, C.P., R.P. Margulis and J.H. Luzadare:
J. Amer. med. Bsv. 154, 557 (1954)

8) Käser, O.: Schweiz. med. Wschr. 36, 991 (1956)

9) Latallo, Z.S., A.Z. Budzyński, B. Lipiński and E. Kowalski:
Inhibition of thrombin and of fibrin polymerization

10) Niesert, H.W.: Z. Geburtsh. Gynäk. 3, 327 (1956)

11) Nussenzweig, V., M. Seligmann, P. Grabar:

Protides of the biological fluids. 8th. colloquium Bruges (1960), Elsevier Publ. Co. Amsterdam (1961)

12) Nussenzweig, V., M. Seligmann, J. Pelmont, P. Grabar:

Séparation et propriétés physicochimiques. Ann. Inst. Pasteur, 100, 377 (1961)

13) Rein, H. u. M. Schneider:

Einf. in d. Physiolog. d. Menschen. Springer Verlg. (1960)

14) Roemer, H. und F.K. Beller:

Geburtsh. u. Frauenheilk. 16, 8 (1965)

15) Soulier, J.P., J. Mathey und A.G. Bolloch:

Rev. Hämat. 7, 30 (1952)

16) Stamm, H.: Einführung in die Klinik der Fibrinolyse. S. Karger Basel (1962)

17) Stamm, H.: Über pathologische Aktivierung der Blutfibrinolyse beim Menschen. Geburtsh. u. Frauenheilk. 12, 1035 (1964)

18) Stamm, H.: Geburtsh. u. Frauenheilk. 24, 12 (1964)

19) Steichele, D.F., H.J. Herschlein und I. Wörner:

Klin. Wschr. 44, 228 (1966)

20) Schneider, Ch.L.: Amer. J. Physiolog. 149, 123 (1947)

21) Schneider, Ch.L.: Surg. Gynec. Obstet. 92, 27 (1951)

22) Schneider, Ch.L.: Surg. Gynec. Obstet. 90, 613 (1950)

23) Schultze, H.E. und G. Schwick:

Quantitative immunologische Bestimmung der Plasmaproteine. Behringwerk-Mitt. 35, 57 (1958)

24) Schultze, H.E. und G. Schwick:

Quantitative immunologische Bestimmung von Plasmaproteinen. Clin. Chim. Acta 4, 15 (1959)

25) Schwick, G., Th. Kranz, R. Schmidtberger und K. Störiko:

Behringwerk-Mitt. 43, 213 (1964)

26) Weiner, A.E., D.E. Reid und C.C. Roby and L.K. Diamond:

Amer. J. Obstet. Gynec. 60, 379 (1950)

Für die Förderung der vorliegenden Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. H. Roemer.

Für die freundliche Überlassung des Themas, sowie die hilfreiche Unterstützung, möchte ich Herrn Dr. D.F. Steichele besonders danken.

Lebenslauf

Am 6. Januar 1939 wurde ich, Konrad Zipplies, in Tübingen als Sohn des praktischen Arztes Dr. Siegfried Zipplies und seiner Ehefrau Lydia geborene Fichtel, geboren. Nach fünf Grundschuljahren besuchte ich für sechs Jahre das Johannes-Kepler-Gymnasium in Tübingen und anschließend drei Jahre das Neusprachliche Gymnasium in Altensteig im Schwarzwald. Im Februar 1959 legte ich dort das Abitur ab.

Im Sommersemester 1959 begann ich in Tübingen das Medizinstudium, wo ich am 13. 10. 1960 das Vorphysikum ablegte. Nach zwei weiteren Semestern unterbrach ich das Studium für ein Jahr, um an einer achtmonatigen Expedition durch Afrika teilnehmen zu können. Im März 1963 legte ich dann in Tübingen das Physikum ab.

Im ersten klinischen Semester studierte ich in Kiel. Im Wintersemester 63/64 kam ich wieder nach Tübingen und bestand dort am 25. Juli 1966 das Medizinische Staatsexamen.